ชื่อวิทยานิพนธ์	การเตรียมสารสกัดและการสร้างข้อกำหนดมาตรฐานของสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศ
ผู้เขียน	นายอภิรักษ์ สกุลปักษ์
สาขาวิชา	เภสัชศาสตร์
ปีการศึกษา	2550

บทคัดย่อ

จากการศึกษากรรมวิธีในการเตรียมสารสกัดใบชุมเห็ดเทศ เพื่อให้ได้สารสกัดใบชุมเห็ดเทศที่มีปริมาณสาร anthraquinones ในปริมาณสูง พบว่า สามารถทำได้โดยการสกัดผงใบชุมเห็ดเทศด้วยวิธีการ reflux โดยใช้ตัวทำละลายผสมของ น้ำ (15 %v/v), hydrochloric acid (5 %v/v), และ ferric chloride (5 %w/v) ใน methanol ซึ่งทำให้ได้สารสกัดที่มีปริมาณ anthraquinones รวมสูงถึง 1.67 %w/w และเมื่อนำสารสกัดที่ได้มาผ่านกระบวนการกำจัดสารปนเปื้อนอื่นๆ ด้วยเทคนิค silica gel vacuum column chromatography โดยใช้ระบบตัวทำละลาย hexane/ethyl acetate (9:1 v/v) เป็นตัวชะสาร สามารถเพิ่มปริมาณ anthraquinones ในสารสกัดได้ถึง 16.7 %w/w ซึ่งมากกว่าการใช้เทคนิค anion exchange chromatography (9.6 %w/w) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดใบชุมเห็ดเทศที่มีปริมาณสาร anthraquinones ในปริมาณสูงนี้ เมื่อวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่าประกอบด้วยสาร anthraquinones หลักสองชนิดคือ aloe-emodin และ emodin เมื่อนำสารสกัดดังกล่าวมาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราที่ก่อโรคกลากสามชนิด ได้แก่ *Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes* และ *Microsporum gypseum* พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านเชื้อดังกล่าวได้ดี โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ (MIC) เท่ากับ 15.62, 62.5, และ 250 µg/ml ตามลำดับ จึงได้กำหนดเกณฑ์ปริมาณสารสำคัญของสารสกัดใบชุมเห็ดเทศไว้ว่าต้องมีปริมาณ anthraquinones รวมไม่น้อยกว่า 15 %w/w นอกจากนี้เมื่อทำการศึกษาถึงคุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัดใบชุมเห็ดเทศที่มีปริมาณสาร anthraquinones สูง สามารถสร้างข้อกำหนดมาตรฐานของสารสกัดได้ดังนี้ ปริมาณความชื้นไม่มากกว่า 0.6 %w/w ไม่พบเถ้า และไม่มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย (aerobic bacteria), *Escherichia coli*, และเชื้อรา เมื่อทำการศึกษาค่าการละลาย พบว่าสารสกัดละลายได้ดีใน DMSO, ละลายได้บ้างใน chloroform และ ethyl acetate, ละลายได้น้อยใน ethanol และ methanol, และไม่ละลายในน้ำและ hexane การศึกษาค่า partition coefficient (log P_{OW}) ของสาร anthraquinones ในสารสกัดใบชุมเห็ดเทศที่มีปริมาณสาร anthraquinones สูง พบว่ามีค่า log P_{OW} เท่ากับ 2.52 ± 0.14 แสดงว่าสาร anthraquinones ในสาร

สกัดใบชุมเห็ดเทศน่าจะถูกดูดซึมผ่านผิวหนังได้ดี การศึกษาความคงตัวของสารสกัดในสภาวะต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าสารสกัดมีความคงตัวดีทั้งในสภาวะที่มีแสงและป้องกันแสง และเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 2 ºC และ 30 ± 2 ºC รวมถึงเมื่อเก็บในสภาวะเร่งที่ 45 ± 2 ºC ความชื้นสัมพัทธ์ 75% อย่างไรก็ตาม การศึกษาอิทธิพลของ pH ต่อความคงตัวของสารสกัดในรูปสารละลาย พบว่าสารสกัดมีความคงตัวดีที่ pH 5.5 และ 7.0 แต่สารสกัดไม่คงตัวที่ pH 8.0 จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบชุมเห็ดเทศที่มีปริมาณสาร anthraquinones สูงนี้ มีความคงตัวดีสำหรับการนำไปพัฒนาเป็นยาต่อไป

Thesis Title	Preparation and Establishment of the Standard Specification of *Senna alata* Leaf Extract
Author	Mr. Apirak Sakunpak
Major Program	Pharmaceutical Sciences
Academic Year	2007

ABSTRACT

Study on the extraction conditions of *Senna alata* leaves in order to obtain anthraquinone high-yielding leaf extract found that the extraction method that a solvent mixture of 15 %v/v water, 5 %v/v hydrochloric acid, and 5 %w/v ferric chloride in methanol under reflux condition was suitable for the extraction. This method allowed high content of anthraquinone was extracted with the total content up to 1.67 %w/w of the crude extract. The obtained, extract was subsequently purified by silica gel vacuum column chromatographic technique using the solvent system of hexane/ethyl acetate (9:1 v/v) as eluent. This resulted was capable of an increase anthraquinone content in the extract up to 16.7 %w/w, which was significantly higher than the content (9.6 %w/w) obtained from anion exchange chromatographic technique. The partially purified extract was found to contain two major anthraquinones, aloe-emodin and emodin by HPLC. Evaluation for the antifungal activity of the extract was sequently performed using three dermatophytes including *Trichophyton rubrum, Trichophyton. mentagrophytes* and *Microsporum gypseum*. It appeared that the extract possessed antifungal activity against the three dermatophytes with minimum inhibitory concentration (MIC) values of 15.62, 62.5, and 250 µg/ml, respectively. Based on these results, suggested that the standard anthraquinone content in the extract should be set up at the value of the total anthraquinones not less than 15 %w/w. In addition, study on the physical properties of the partially purified extract let to the establishment of the specification of the extract as follows: moisture content (loss on drying) not more than 0.6 %w/w, no contained ash, and no contamination with aerobic bacteria, *Escherichia coli*, and fungi. Solubility evaluation of the extract in various solvents found that the extract was freely soluble in DMSO, sparingly soluble in chloroform and ethyl acetate, slightly soluble in ethanol and methanol, and practically insoluble in water and hexane. The partition coefficient (log P_{OW}) value

of the anthraquinones in the extract was found to be 2.52 ± 0.14. It implies that the anthraquinones in the extract have good percutaneous absorption. Stability evaluations of the anthraquinone high-yielding extract in several conditions through the period of 4 months found that the extracts were stable either kept under light or protected from light. The extracts were also stable under 4 ± 2 ºC, 30 ± 2 ºC and accelerated condition at 45 ºC with 75% relative humidity. Study on the effect of pH on the stability of the anthraquinones found that the extracts had a good stability at pH 5.5 and 7.0 but not stable at pH 8.0. These results indicate that the extract preparation of *S. alata* possesses a satisfactory stability for further development as herbal medicines.